



(51) 国際特許分類 G01N 27/327, 27/26	A1	(11) 国際公開番号 WO99/60391 (43) 国際公開日 1999年11月25日(25.11.99)
(21) 国際出願番号 PCT/JP99/02632 (22) 国際出願日 1999年5月19日(19.05.99) (30) 優先権データ 特願平10/155213 1998年5月20日(20.05.98) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 株式会社 京都第一科学 (KYOTO DAIICHI KAGAKU CO., LTD)[JP/JP] 〒601-8045 京都府京都市南区東九条西明田町57番地 Kyoto, (JP) (72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 池滝和雄(IKETAKI, Kazuo)[JP/JP] 井上洋一(INOUE, Yoichi)[JP/JP] 浜本勝美(HAMAMOTO, Katsumi)[JP/JP] 〒601-8045 京都府京都市南区東九条西明田町57番地 株式会社 京都第一科学内 Kyoto, (JP)		(74) 代理人 池内寛幸, 外(IKEUCHI, Hiroyuki et al.) 〒530-0047 大阪府大阪市北区西天満4丁目3番25号 梅田プラザビル401号室 Osaka, (JP) (81) 指定国 AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM) 添付公開書類 国際調査報告書
(54)Title: METHOD AND APPARATUS FOR ELECTROCHEMICAL MEASUREMENT USING STATISTICAL TECHNIQUE (54)発明の名称 統計的手法を用いた電気化学的測定方法および測定装置 <p>1. OR 2. VOLTAGE 3. CURRENT 4. FIRST EXCITATION 5. SECOND EXCITATION 6. CLOSED CIRCUIT 7. TIME</p>		
(57) Abstract A predetermined voltage is applied to a biosensor twice to promote an electrochemical reaction, and the following parameters (P1 and P2) are calculated from the values of detected current. A statistical technique is used with these parameters to compensate for errors so that the concentration of an object can be determined. P1: the ratio (I_f/I_b) of the maximum current (I_f) or a current occurring the maximum in the first excitation to a current (I_b) read at any point in the second excitation. P2: a current (I_b) read at any point in the second excitation.		

(57)要約

バイオセンサに定められた電圧を2回印加して電気化学反応を促進させ、その結果得られる電流値から下記パラメータ P1 および P2 を算出し、これらのパラメータから統計的手法により誤差を補正して分析対象物濃度を算出する。

P1: 1回目励起における電流の最大値または最大値以降の電流値(I_f)と2回目励起の任意の時点における電流値(I_b)の比(I_f/I_b)。

P2: 2回目励起の任意の時点における電流値(I_b)。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE アラブ首長国連邦	DM ドミニカ	KZ カザフスタン	RU ロシア
AL アルバニア	EE エストニア	LC セントルシア	SD スーダン
AM アルメニア	ES スペイン	LI リヒテンシュタイン	SE スウェーデン
AT オーストリア	FI フィンランド	LK スリ・ランカ	SG シンガポール
AU オーストラリア	FR フランス	LR リベリア	SI スロヴェニア
AZ アゼルバイジャン	GA ガボン	LS レソト	SK スロヴァキア
BA ボスニア・ヘルツェゴビナ	GB 英国	LT リトアニア	SL シェラ・レオネ
BB バルバドス	GD グレナダ	LU ルクセンブルグ	SN セネガル
BE ベルギー	GE グルジア	LV ラトヴィア	SZ スワジランド
BF ブルキナ・ファソ	GH ガーナ	MA モロッコ	TD チャード
BG ブルガリア	GM ガンビア	MC モナコ	TG トーゴ
BJ ベナン	GN ギニア	MD モルドヴァ	TJ タジキスタン
BR ブラジル	GW ギニア・ビサウ	MG マダガスカル	TZ タンザニア
BY ベラルーシ	GR ギリシャ	MK マケドニア共和国	TM トルクメニスタン
CA カナダ	HR クロアチア		TR トルコ
CF 中央アフリカ	HU ハンガリー	ML マリ	TT トリニダード・トバゴ
CG コンゴ	ID インドネシア	MN モンゴル	UA ウクライナ
CH スイス	IE アイルランド	MR モーリタニア	UG ウガンダ
CI コートジボアール	IL イスラエル	MW マラウイ	US 米国
CM カメルーン	IN インド	MX メキシコ	UZ ウズベキスタン
CN 中国	IS アイスランド	NE ニジェール	VN ヴィエトナム
CR コスタ・リカ	IT イタリア	NL オランダ	YU ユーゴスラビア
CU キューバ	JP 日本	NO ノールウェー	ZA 南アフリカ共和国
CY キプロス	KE ケニア	NZ ニュージーランド	ZW ジンバブエ
CZ チェッコ	KG キルギスタン	PL ポーランド	
DE ドイツ	KP 北朝鮮	PT ポルトガル	
DK デンマーク	KR 韓国	RO ルーマニア	

明 細 書

統計的手法を用いた電気化学的測定方法および測定装置

技術分野

- 5 本発明は、試料中の分析対象物濃度を電気化学的に測定する方法に関する、詳しくは、試料物性およびセンサ感度に起因する誤差を補正して試料中の分析対象物濃度を求める電気化学的測定方法に関する。

背景技術

- 10 近年、生化学や臨床医療等の分野において、試料中の分析対象物の濃度を迅速かつ簡便に行う方法として、電気化学的測定方法が用いられている。電気化学的測定方法とは、試料中の分析対象物を化学反応や酵素反応によって得られる電流等の電気的信号で捉える方法である。

- 例えば血液中のグルコース濃度を測定する場合は、以下の工程によって行われる。試料である血液中の分析対象物としてのグルコースは、グルコースオキシダーゼ（GOD）と反応してGOD・H₂複合体が生成され、フェリシアン化カリウム等の電子伝達体によって電子が遊離させる。遊離した電子は、電極で捉えて電流値を求め、予め作成しておいた検量線や検量式などから、グルコース濃度を換算している。

- 20 電気化学的測定方法には、バイオセンサと通称される使い捨てデバイスが汎用されている。バイオセンサは、反応層と電極系とを有する。

反応層は、試料中の分析対象物と特異的に反応する反応試薬、酵素又は基質を備えており、反応の場を提供している。

また、電極系は、作用極及び対極からなり、酸化還元反応が起こる電圧を与えることによって、反応層で起こる化学反応によって生じる電子

の授受を電子伝達体から電極への電流を電氣的信号として捕らえている。

バイオセンサは、ある一定の時間で所定の電圧を与える機能や、バイオセンサから伝達される電氣信号を測定する機能、前記電氣的信号を分析対象物濃度に換算する計算機等の種々の機能を備えた測定機器と組み
5 合わせて使用される。このようなシステムをバイオセンサシステムという。

電極系に電圧を印加する方法は、さまざまな方法があるが、時間に対して矩形波的に電圧を印加する方法は、ポテンシャルステップ法と呼ばれている。通常、バイオセンサシステムでは、バイオセンサに試料が供給されたことを検知した後に、開回路または実質的に電流の流れない電
10 圧を与えて化学反応を促進させる。一定時間後、一定の電圧を印加し、電子伝達体と電極との電子の授受、すなわち酸化還元反応を行わせる。バイオセンサに目的の酸化還元反応が起こる電圧を与えられている状態を励起状態という。通常は、前記励起状態の任意の一定時点における電
15 流値を測定し、予め用意しておいた検量線や検量式を用いて、前記電流値を分析対象物濃度に換算する。

これに対し、複数回の励起、複数回の電流測定を行っている例としては、特許第2651278号公報、特開平8-304340号公報、特開平10-10130号公報等に掲示された測定方法がある。

20 特許第2651278号公報は、反応域を流れる電流が所定のコントロール電流との関係に従って変化しているかどうかを判定する方法を提供している。

また、特開平8-304340号公報は、センサ保存時に生じた還元型の中間生成物に起因する測定誤差を減少させることを目的としている。

25 特開平10-10130号公報は、バイオセンサシステムにおける全血試料と対照水溶液の識別方法を提供している。

一方、バイオセンサを用いた測定結果は様々な要因による誤差を含む場合がある。前記測定誤差の要因の1つとして、試料物性が挙げられる。

例えば、試料が全血である場合で、分析対象物が血液中のグルコースである場合、全血に対する赤血球の容積比であるヘマトクリット値（H c t）は、測定結果に誤差を与えることがわかっており、しかも個人差が大きい。原因は、試料の粘度が高くなるためと考えられている。

この他にも、血液中の中性脂肪濃度やタンパク質濃度も要因となって、血液中の分析対象物の濃度を測定する場合において、血球、脂質、タンパク質等の試料物性が、測定誤差の要因となっていた。

- 10 誤差による影響を回避するための対策として従来の方法は、バイオセンサの化学反応層または電極系の組成を改良することが一般的に行われる方法である。例えば、特開昭62-64940号公報には、測定妨害物質を無害とする酵素を酵素固定化膜中に固定したバイオセンサが開示されている。特開昭61-3048号公報には、生体触媒電極に加え、
- 15 測定妨害物質量を検知する電極を有するバイオセンサが開示されている。特開昭60-211350号公報には、酵素と色素を含有する電極系と、色素のみを含有する多孔体を設けた電極系の2つの電極系から構成されるバイオセンサが開示されている。しかしながら、これらのバイオセンサは、構造が複雑であるため製造工程が複雑になり、製造コストも高く
- 20 なる欠点を有していた。

また、測定誤差の別の要因として、センサ感度があげられる。センサ感度は、バイオセンサの製造ロット毎に異なる場合が多い。製造会社では、製造ロット毎にセンサ感度補正チップを作製し、バイオセンサと併せて出荷している。

- 25 使用者は、バイオセンサのロットが変更された時には、通常の測定を行う前に、変更後のロットに対応した補正チップを用いて感度補正を行

う必要があった（特開平４－３５７４５２参照）。

しかし、このような行為は使用者に負担を要求することになる。その上、補正チップにより補正される幅は、センサ製造時の感度が基準となって補正の程度が決定されてしまうため、出荷後に起こるセンサ感度の経時

5 変化等は補正されない。

また電気化学的測定方法は、化学反応を用いるため、環境温度および試料温度の影響も受ける。すなわち、環境温度および試料温度も測定誤差の要因となりうる。日本国特許第２７４８１９６号は、その温度依存性が非線形性である化学センサの温度依存性の補正方法を提供している。

10 従って本発明の目的は、バイオセンサや測定装置の構造及び製造を複雑にすることなく、使用者及び製造者の負担を軽減し、試料中の分析対象物濃度に与える誤差の補正を行うことで高い精度の結果が得られる電気化学的測定方法を提供することである。

15 発明の開示

前記目的を達成するために、本発明は、電極系および化学反応層を有するバイオセンサを用いて試料中の分析対象物の濃度を測定する電気化学的測定方法において、試料供給後の前記センサに一定電圧を印加した結果得られる電流値や、電流値の比をパラメータとして算出し、統計的

20 手法により分析対象物濃度を算出することを特徴とする。パラメータの設定は適宜測定結果に影響を与える誤差要因毎に設定されるものであり、試料物性による影響をより大きく受けるパラメータを選択することやセンサ感度による影響をより大きく受ける電流値を選択することで要因となる誤差を直接的に補正することが可能となった。

25 前記パラメータとしては、例えば、試料供給後のバイオセンサに定められた電圧を２回印加して電気化学反応を促進させた場合の下記のパラ

メータ P 1 およびパラメータ P 2 を使用することが好ましい。

P 1 : 1 回目励起における電流の最大値又は最大値以降の電流値 (I f) と 2 回目励起の任意の時点における電流値 (I b) の比 (I f / I b) 。

5 P 2 : 2 回目励起の任意の時点における電流値 (I b) 。

前記 2 つのパラメータを使用した、統計的手法を用いることで試料物性およびセンサ感度に起因する誤差を高精度で補正することができる。従って本発明の適用により、センサの構造や製造を複雑にすることなく、しかも使用者に負担をかけずに信頼性の高い測定をすることが可能となった。

更に、前記パラメータ P 1 及びパラメータ P 2 に加え、下記に示すパラメータ P 3 およびパラメータ P 4 を用いることも可能である。

P 3 : 2 回目励起の任意の時点における電流の微分値または差分値を前記時点における電流値で基準化した値 (I / Δ I (γ)) 。

15 尚、ここで言う基準化とは、前記微分値または差分値を、分析対象物濃度に依存しないパラメータとするために、前記時点における電流値との比を取るという意味である。また、差分値と電流値の比をとる場合の前記電流値は、差分を取る 2 点の間の任意の点を取ることができる。

20 P 4 : 2 回目励起における初期電流値 (I b (α)) と終期電流値 (I b (β)) との比 (I b (α) / I b (β)) 。

これらのパラメータは、下記に示すような指標であると本発明者らは推察している。但し、これらは推察であり、必ずしも一つのパラメータが一つの指標に対応しているわけではない。

P 1 : 主として試料物性による影響をより大きく受ける電流値。

25 P 2 : 主として試料中の分析対象物の濃度を示す電流値。

P 3 : 主として化学反応部における試料と反応基質の化合物およ

び混合物のセンサ内における拡散状態を表す電流値。

P 4 : 主としてセンサの電極感度による影響をより大きく受ける電流値。

- 本発明において、パラメータ P 1 及びパラメータ P 2 の算出に用いる
- 5 2 回目励起の任意の時点における電流値 I b は、2 回目励起における終期の電流値 (I b (β)) であることが好ましい。

- パラメータ P 3 及びパラメータ P 4 の少なくとも一方の値が、期待範囲の範囲から外れている場合、前記値を、最も近い期待範囲の境界値に置き換えることが好ましい。このような補正を、以下「飛び値補正」と
- 10 いう。本発明で言う期待範囲とは、分析対象物の濃度から予測されるパラメータの範囲である。

- 本発明において、環境温度又は試料温度に応じて適切な補正を行うため、環境温度又は試料温度に応じた複数の統計的手法を用いた補正式を用意し、この中から最適な補正式を選択することが好ましい。なぜなら
- 15 ば環境温度や試料温度により、センサに電圧を印加して励起状態とすることで得られる電流値が大きく変動し、前記パラメータも変動するからである。

- またこの時、環境温度または試料温度が、補正方法に用いる温度範囲の境界域に該当する場合、境界に隣接する双方の補正方法を選択して、
- 20 それぞれから補正幅を算出し、平均値または加重平均値を濃度換算用電流値に加算した値を基に、試料中の分析対象物の濃度を算出することが好ましい。環境温度又は試料温度が、前記境界域に該当する場合、いずれか一方の補正方法を選択するよりは、境界に隣接する双方の補正方法を選択し、得られる補正值の平均値又は加重平均値を得る方が測定精度
- 25 が向上する。

本発明において、前記統計的手法としては、例えば、判別関数やマハ

ラノビスの距離を使用できる。

統計的手法として、判別関数を用いる場合を以下に説明する。

判別関数とは、測定データが、予め定められた2つのグループ、例えばG₁とG₂のどちらに属するかを判別ために、複数のパラメータ (x_1, x_2, \dots) によって定義される一次式 $Z = f(x_1, x_2, \dots)$ のことである。

どちらの群に属するかは、Z値の符号によって判別される。例えば血液試料のHctの高低を判別するための関数は、低Hct群G₁と高Hct群G₂を母集団として定義される。

- 10 試料中の分析対象物の濃度に応じて複数の判別関数を用意し、パラメータP2のIbを指標として、前記複数の判別関数の中から適切な判別関数を選択し、選択された判別関数から判別得点Z値を算出し、前記Z値により誤差を補正することにより測定結果を求めることが好ましい。

- この際、前記指標により複数の判別関数が選択された場合は、前記判別関数のそれぞれからZ値を算出、及びZ値に該当する補正幅を計算し、補正幅の平均値又は加重平均値によって求めるのが好ましい。前述と同様に、いずれか一方の補正幅を使用するのではなく、補正幅の平均値または加重平均値を使用する方が、測定精度が高くなる。

- 前記判別関数を用いた補正において、Z値の符号により、どの母集団に属するかを決定する補正でもよいが、判別得点Z値に基づき補正幅を計算する方が好ましい。例えば判別得点Zを、補正対象範囲と非補正対象範囲(補正幅=0)に分けることができる。

- 更に補正対象範囲を、判別得点Z値に比例した補正幅で補正する範囲と、判別得点Z値とは関係なく一定の補正幅によって補正する範囲とに分けることもできる。これによって、判別得点の符号により群分けして補正する方法よりも高精度の補正が可能となる。この様な補正方法を、

以下「非線形補正方式」という。

本発明の測定方法において、統計的手法としては、前記判別関数の選択及び判別得点Z値の算出に代えて、マハラノビス空間の選択及びマハラノビスの距離Dに置き換えても、同様に高精度の測定が可能となる。

- 5 本発明において、試料物性に起因する誤差を補正した後、センサ感度に起因する誤差の補正を行うことが好ましい。また、パラメータP2であるI_bは、試料中の分析対象物濃度を反映すると考えられるので、前記I_bに対して試料物性要因及びセンサ感度要因による誤差の補正を行い、この補正值に温度補正係数を乗じた値を基に、試料中の分析対象物
- 10 濃度を算出することが好ましい。

- 次に本発明の測定装置は、環境温度または試料温度の測定手段と、試料供給の検知手段と、定められた時点において所定の電圧を印加する手段と、電気化学反応により生じる電流値の測定手段と、前記電流の測定値を試料中の分析対象物濃度に換算する手段とを備えた測定装置であつて、前記温度測定手段、前記試料供給検知手段、前記印加手段、前記電
- 15 流値測定手段および前記換算手段が、前記本発明を実行する様に制御されている測定装置である。前記制御は、通常その手順がプログラムされたマイクロコンピュータにより実施される。

20 図面の簡単な説明

第1図は、本発明の一実施例におけるポテンシャルステップを示す図であり、第2図は、本発明の一実施例における測定および演算フローを示す図であり、第3図は、本発明の一実施例における補正Iの詳細フローを示す図である。

25

発明を実施するための最良の形態

分析対象物が血液中のグルコースの場合を例に取り、本発明の測定方法の一般的な手順を図 1 のポテンシャルステップ、図 2 の測定・演算フロー及び図 3 の補正方式フローに基づいて以下に説明する。この例では判別関数を用いて、2 回目励起の終期電流値に対して試料物性及びセン

5 サ感度に起因する誤差の補正を行った後、温度補正し、グルコース濃度に換算する方法である。

本発明が提供する方法が用いるポテンシャルステップを、図 1 に示す。センサの電極系には、センサを測定装置に装着した後、一定電圧が印加される。センサに試料を供給すると電流が流れ始めるが、一定値以上の

10 電流を検出した時点を試料供給があった時と検知し、0 秒と定める。

試料供給検知後一定電圧が印加されており、 t_1 秒後に印加が解除される。従って $0 - t_1$ 秒の間が 1 回目励起となる。ただし試料供給検知直後に、3 秒以内の開回路又は実質的に酸化還元反応の起こらない電圧を印加する過程が入ってもよい。なぜなら本発明においては、1 回目励

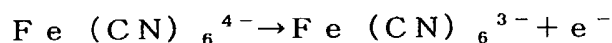
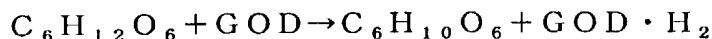
15 起電流の最大値またはそれ以降の電流値に着目しているためである。1 回目励起における電圧は、通常 $300 \sim 900 \text{ mV}$ の範囲であり、 t_1 は、通常 $3 \sim 15$ 秒間の範囲である。また、図示のように、1 回目励起における電流値の推移は、最初上昇して最大値を迎えた後、減衰する。

1 回目励起の後、 $t_1 - t_2$ 秒の間は、開回路又は実質的に酸化還元

20 反応の起こらない電圧を与える。この間にバイオセンサの化学反応層で、グルコース、GOD 及び電子伝達体（例えば、フェリシアン化カリウム）が反応する。 t_1 と t_2 の間隔は、通常 $3 \sim 60$ 秒間の範囲である。そして、 $t_2 - t_3$ 秒の間、再度電極に目的の酸化還元反応を起こす電圧を印加し、2 回目励起を行う。これにより、電子伝達体と電極との間に

25 電子の授受が起こり、電流が観測される。2 回目励起における電圧は、通常 $300 \sim 900 \text{ mV}$ の範囲であり、時間は通常 $2 \sim 10$ 秒間である。

以上一連の反応を下記に示す。



ポテンシャルステップから測定される電流値を用いて、前記4つのパラメータを算出する。まず1回目励起の最大値またはそれ以降の電流値
 10 (I f (α)) と2回目励起における電流値 (I b (β)) を測定して、
 P 1 (I f (α) / I b (β)) 及び P 2 (I b (β)) を算出する。
 I f (α) は、通常最大値を観測してから15秒以内の電流値を測定する。
 また I b (β) は、2回目励起開始 (t₂) から2～10秒後の終
 15 期の電流値を取ることが好ましく、特に好ましくは終点 (t₃) の電流
 値である。

また、2回目励起の任意の時点における電流の微分値または差分値を
 前記電流値において基準化した値である P 3 (I / Δ I) は、図1にお
 いて、2回目励起のある時点 (γ) の電流値 (I b (γ)) と、それよ
 りわずかに遅い時点 (γ + Δ) の電流値 (I b (γ + Δ)) とを測定し、
 20 これらの値から算出する。P 3を算出するための時点 (γ) は、2回目
 励起開始時点 (t₂) から0.1～1秒間の範囲が好ましく、それより
 わずかに遅い時点 (γ + Δ) は、Δが0.1～1秒間になるようにする
 ことが好ましい。

このうち P 3 と P 4 に関しては、飛び値補正を行う。すなわちパラメ
 25 ータ値が I b (β) から予測される期待範囲から外れている場合、前記
 パラメータ値を、それに最も近い期待範囲の境界値に置き換えて以降の

計算に用いる。P 1 と P 2 に関しては、飛び値補正を行わず、そのまま以降の計算に用いる。

他方、測定機器に内蔵の温度計により、環境温度または試料温度を測定する。前記温度は後に判別関数の選択、試料物性及びセンサ感度に起因する誤差を補正して求められた値を補正する際に用いられる。環境温度又は試料温度の測定は、前記パラメータの算出の前後を問わず、勿論同時であってもよい。

試料物性或センサ感度を認識するための基準とするための判別関数を定義する際に用いる母集団を作成する。母集団を作成するための測定において、血液試料、センサ、温度等の条件の設定が重要である。試料の種類および分析対象物濃度毎に、できる限り多くの条件を設定することが好ましいが、前記試料物性に対して最低限 2 種類の群、例えば高値と低値を設定する。例えば、条件を H_{ct} とする場合、高 H_{ct} と低 H_{ct} による測定データを得ることである。

センサは、製造時期（製造後の経過時間）、製造ライン、センサ感度などを、できる限り一般の使用状況と合った分布となるようにして、10 ロット以上選択する。温度もできる限り多く設定する方が好ましいが、最低限 30 ～ 35℃ を境界とした、2 種類を必要とする。何故なら、パラメータとして用いる I_f / I_b の分析対象物濃度に対する反応性は、前記境界以下の温度であれば、下に凸の 2 次関数に近い形状であるのに対して、前記境界以上の温度であれば直線に近い反応性を持つからである。

母集団は、それぞれの温度条件において測定された、試料とセンサの組み合わせによって作成される。すなわち、試料物性およびセンサ感度に対する補正方式は、設定した条件温度で作成される。ここでは、30 ～ 35℃ を境界域とした、中低温側補正方式と高温側補

正方式の2種類用意した場合の補正方式を以下に述べる。

まず、前記中低温側補正方式において2回目励起の終期電流値 (I_b (β)) の補正を行う。図3に示す様に、この補正は、試料物性に起因する誤差の補正、センサ感度に起因する誤差の補正の順序で行われる。

- 5 分析対象物濃度の範囲毎に試料物性補正用判別関数を用意する。試料物性補正用判別関数は、ある測定データが、H c t の高低の違いから分類された2つの母集団のうち、どちらの母集団に属するか、前記パラメータを用いて判別するための判別関数として作成される。この際、飛び値と判断されるパラメータを含むデータは、母集団に含めないことが好ましい。何故なら母集団は、基準となるため均一であることが好ましいからである。

また、分析対象物の濃度範囲の設定は、経験的に決定することができる。

- 15 試料物性補正用判別関数は、 I_b (β) に乗じた値を指標として、単一または複数選択しても良いし、温度計により測定された環境温度または試料温度から予め算出しておいた温度補正係数 (T_1) を I_b (β) に乗じた値を指標として、単一または複数選択しても良い。

- 20 単一の試料物性補正用判別関数が選択された場合について述べる。まず、前記の様に算出されたパラメータを、前記試料物性補正用判別関数に代入し、判別得点Z値を算出する。このZ値の符号を基に、どの母集団に属するかを決定してもよいが、この他に I_b (β) とZ値の関係から補正幅を決め、これにより前記 I_b (β) を補正してもよい。例えば以下に示す様にZ値を5つの領域に分け、非線形補正方式により補正幅を決定する。なお以下において、一定幅で補正するとはZ値に関係なく、
25 測定された I_b (β) により決定される一定幅の補正を行うことである。一定幅は、分析対象物の種類やその他の要因を考慮し、経験的に決定す

ることができる。

線形補正とは、前記一定幅を上限としてZ値との比例関係から補正幅を決めることである。

- このようにして決められた補正幅を、補正幅Aとよぶ。また、例にお
- 5 ける5つの領域は、分析対象物の種類やその他の要因を考慮し、経験的に決定することができる。

- (1) Z値がプラス側に極めて大きい：マイナス側に一定幅で補正。
- (2) Z値がプラス側に大きい：マイナス側に線形補正。
- 10 (3) Z値が0付近：補正なし。
- (4) Z値がマイナス側に大きい：プラス側に線形補正。
- (5) Z値がマイナス側に極めて大きい：プラス側に一定幅補正。

- 試料物性に起因する誤差の補正が行われなかった（補正幅A=0）場
- 15 合は、センサ感度に起因する誤差の補正を行う。センサ感度補正用判別関数も、分析対象物の濃度範囲毎に用意する。センサ感度補正用判別関数は、 $I_b(\beta)$ に乘じた値を指標として選択される。単一のセンサ感度補正用判別関数が選択された場合、前記パラメータ及び前記判別関数から判別得点Z値を算出し、それに該当する補正幅を算出する。センサ
- 20 感度補正用判別関数は前記パラメータを用い、電極感度等の違いから分類された母集団を判別する判別関数として作成される。複数のセンサ感度補正用判別関数が選択された場合は、それぞれのセンサ感度補正用判別関数から判別得点Z値とZ値に応じた補正幅を算出し、補正幅の平均値を補正幅Bとする。
- 25 前記試料物性補正用判別関数を用いた場合の補正幅中間値Cは、次の様に決定される。

(1) 補正幅 $A \neq 0$ の場合は、補正幅中間値 $C = \text{補正幅 } A$

(2) 補正幅 $A = 0$ の場合は、補正幅中間値 $C = \text{補正幅 } B$

- 5 複数の試料物性補正用判別関数が選択された場合、前記と同様にして前記試料物性補正用判別関数のそれぞれから補正幅中間値 C を算出し、それらの平均値または加重平均値を最終補正幅 D とする。単一の試料物性補正用判別関数が選択された場合は、補正幅中間値 C が最終補正幅 D となる。前記最終補正幅 D を 2 回目励起の終期電流値 ($I_b(\beta)$) に
- 10 加算した値が、中低温側補正方式の最終電流値 $I_b(\beta) < \text{中低}>$ となる。

高温側補正方式においても、中低温側補正方式と同様に、データ取り、母集団および判別関数の作成、補正幅の算出などを行い、高温側最終電流値 $I_b(\beta) < \text{高}>$ を算出する。

- 15 温度計により測定された温度から、温度補正前電流値 $I_b(\beta)'$ を求める。例えば、 $10 \sim 30^\circ\text{C}$ においては $I_b(\beta)' = I_b(\beta) < \text{中低}>$ とし、 $35 \sim 40^\circ\text{C}$ においては $I_b(\beta)' = I_b(\beta) < \text{高}>$ とする。そして、 $30 \sim 35^\circ\text{C}$ の温度範囲は、境界域と判断し、 $I_b(\beta) < \text{中低}>$ と $I_b(\beta) < \text{高}>$ の平均値または加重平均値を $I_b(\beta)'$ と
- 20 する。なお、前記境界域の選定は、分析対象物の種類やその他の要因を考慮し、経験的に決定することができる。

- そして、 $I_b(\beta)'$ に、環境温度または試料温度から予め算出しておいた温度補正係数 (T_1) を乗じる。この様にして算出した値を $I_b(\beta)$ の補正後最終電流値 $I_b(\beta)''$ とする。そして、予め作成した
- 25 検量線や検量式などを用いて、 $I_b(\beta)''$ をグルコース濃度に換算する。

なお、図 3 に示す補正の判別関数を選択する各セクションにおいて、
1 種類のみ選択される場合は①（センサ感度補正用判別関数においては
①' または①''）のみ選択し、2 種類選択される場合は①と②（センサ
感度補正用判別関数においては①' と②' または①'' と②''）のそれぞ
5 れから補正幅を算出し、その平均値を補正幅中間値および最終補正幅と
する。

以下、具体的な実施例により本発明を更に詳しく説明する。

バイオセンサシステムの一例として、血液試料中のグルコース濃度を
10 定量するグルコースセンサシステムについて以下に説明を行う。

グルコースセンサシステムで用いるグルコースセンサは、次の構成か
らなるものを使用した。ポリエチレンテレフタレート（PET）からな
る絶縁性の基板上に、スクリーン印刷により、銀リードと作用極および
対極を含むカーボン電極系及び電気絶縁層が形成されている。電気絶縁
15 層は、作用極及び対極の露出部分の面積を一定とし、かつ銀リードを部
分的に覆っている。この様にして形成された電極系の上に、親水性高分
子であるカルボキシルメチルセルロース（CMC）層の上に、酵素とし
てのグルコースオキシダーゼ（GOD）とメディエータ（電子伝達体）
としてのフェリシアン化カリウム、更にCMCからなる、（酵素+メデ
20 イエータ+CMC）層が形成されている。CMC層と（GOD+メデ
イエータ+CMC）層を併せて化学反応層と称する。更にカバーとスペー
サーからなるインサートが形成されており、インサートへ血液試料を触
れさせると、毛管現象により一定量（約 3 μ L）の試料が化学反応層お
よび電極系へ供給される様になっている。一方測定機器としては、汎用
25 のポテンショスタット 100B/W（BAS社製）を使用した。通常の
バイオセンサシステムであれば、一つのテストセルにそれ専用の機器が

組み合わせられて使用されるが、本実施例では汎用の機器を使用している。
しかしながら既知技術を用いた簡易な機器であっても、本実施例の再現
実施は容易である。また本実施例は環境試験室における測定結果である
が、温度センサを搭載した簡易機器においても、本実施例の再現は可能
5 である。

ポテンシャルステップは、次の様に与えた。

グルコースセンサを機器に装着し、試料供給前および試料供給検知後
7秒間はグルコースセンサに500mVの電圧を印加した。その後18
秒間の開回路を経て、再度500mVの電圧を5秒間印加した。各印加
10 電圧の持つ意味は次の通りである。試料供給前の印加電圧は、試料供給
により電気化学的に発生する電流を検知し、一定値以上の電流を検知す
ることで試料供給を検知し、 $t = 0$ を定めることを目的としている。試
料供給検知後7秒間の印加電圧は、1回目励起のためであり、主として
試料物性の差に起因する電流プロファイルの差異を検出することを目的
15 としている。18秒間の開回路は化学反応を促進させ、電気化学反応の
基質となる $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ を蓄積することを目的としている。その後
の5秒間の印加電圧は2回目励起のためであり、前記 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$
を電気化学的に $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ へと変換し、センサ感度および分析対
象物濃度の違いにより生じる電流プロファイルの違いを検出することを
20 主目的としている。

(実施例1)

まずは、測定結果に与える誤差要因として最も影響の大きい試料物性
に着目して、Hctによる誤差の補正を行った。
25 電流は、試料供給検知直後も再印加後も0.1秒毎に測定したが、演
算に用いる電流値は以下の3点とした。すなわち、試料供給検知直後電

流のピーク値 I_p 、再印加後電流の 0.5 秒後値 $I(0.5)$ 、再印加後電流の 5 秒後値 $I(5)$ とした。この内、 I_p は以下の様にして算出した。すなわち、試料供給検知直後電流において、 $I(t) > I(t + 0.1)$ となった瞬間の $I(t)$ を I_p とした。各電流値の持つ意味は

5 以下の通りである。 I_p は血液粘性の様な試料物性の違いにより生じる電流プロファイルの違いを検出することを目的としている。 $I(0.5)$ は、 I_p との比を取ることで、 I_p の持つグルコース濃度要因を小さくすることを目的としている。 $I(5)$ は、グルコース濃度依存しておりグルコース濃度換算に用いることのできる電流値を得ることを目的とし

10 ている。

血液粘性を示す指標として $I(0.5) / I_p$ を求め、 α_1 とした。ここでは、血液試料中の血球として調整しやすい赤血球を用いて、赤血球量をヘマトクリット値によって以下に示す実験を行った。

血液試料中のグルコース濃度に関わらずヘマトクリット 30% の検体

15 とヘマトクリット 60% の検体を識別する α_1 と $I(5)$ の関係式を次の様に定めた。

$$z = -23.115 \times \alpha_1 + 1.254 \times I(5) + 41.580$$

20 血液試料のヘマトクリットの大小は、 z の値に反映される。 z が正に大きい程、血液試料のヘマトクリットが小さいと考えられる。

前記 α_1 と $I(5)$ の関係から、試料物性補正後の電流値 $I'(5)$ を次式により算出した。

25
$$I'(5) = \text{slope} \times (-z) + I(5)$$

但し、
$$\text{slope} = 0.0238 \times I(5) - 0.0338$$

この様にして算出した血液粘性補正後電流値 I' (5) を、所定の検量線テーブルを用いて、グルコース濃度値換算を行うことにする。

一例を挙げると、グルコース濃度 536 mg/dL ・ヘマトクリット

5 30%の血液試料を用いて以下の様なデータが得られた。

$$I_p = 10.210 (\mu\text{A})$$

$$I(0.5) = 20.290 (\mu\text{A})$$

$$I(5) = 10.110 (\mu\text{A})$$

10

このデータの場合、次の様な演算を経て、血液粘性補正後電流値 I' (5) を求めることができる。

$$\alpha_1 = I(0.5) / I_p = 1.987$$

$$15 \quad z = -23.115 \times \alpha_1 + 1.254 \times I(5) + 41.58 \\ = 8.328$$

$$\text{slope} = 0.0238 \times I(5) - 0.0338 = 0.207$$

$$I'(5) = \text{slope} \times (-z) + I(5) = 8.387$$

20 この I' (5) を、予め求めておいた検量線を用いて、グルコース濃度値に換算することになる。

本実施例において用いた血液試料は次の通りである。同一血液型4名の血液を混合し、ヘマトクリットを30%・45%・60%に調製した血液試料に、グルコース水溶液を添加して、グルコース濃度を 83 mg/dL ・ 307 mg/dL ・ 536 mg/dL になる様調製した。これら9種類の血液試料を用いて、測定n数を15として測定を行った。

本実施例において血液試料を用いた場合のヘマトクリットに起因する誤差を補正することができたことを以下に説明する。

各グルコース濃度において、ヘマトクリットの異なる種類の血液試料の測定データを1つにまとめて算出した変動係数C. V. (%)を示す。

- 5 下記の表1に試料物性補正前及び補正後における変動係数の比較表を示す。

(表1)

グルコース濃度	補正前	補正後
83mg/dl	5.40%	3.92%
307mg/dl	10.69%	5.67%
536mg/dl	16.52%	8.56%

- 10 ヘマトクリット値は個人によって差があるが、本発明において45%を基準値とした場合、各グルコース濃度におけるヘマトクリット45%検体の測定値からの乖離度(%)は次の表2及び表3の通りである。なお、ここでいう補正後データの乖離度とは、ヘマトクリット45%の補正後平均値からの乖離を示す。表2はヘマトクリットが30%と、ヘマ
15 トクリット45%における測定平均値からの乖離(%)を示す。

(表2)

グルコース濃度	補正前	補正後
83mg/dL	4.27%	-0.15%
307mg/dL	14.43%	1.50%
536mg/dL	15.69%	-1.92%

補正を行うことによって血液試料物性による誤差が明らかに改善された。

表 3 はヘマトクリットが 60 % の測定平均値の、ヘマトクリット 45 % における測定平均値からの乖離 (%) を示す。

(表 3)

グルコース濃度	補正前	補正後
83 mg/dL	-4.31%	-1.77%
307 mg/dL	-10.85%	-4.10%
536 mg/dL	-22.21%	-9.12%

- 5 補正を行うことによって血液試料物性による誤差が明らかに改善された。

(実施例 2)

- 次に一連の演算過程において、試料物性としての Hct 影響による誤差の補正と、センサ感度による誤差の補正を同時に行った例を示す。

- 電流は、試料供給検知以降 0.1 秒毎に測定したが、演算に用いる電流値は以下の 5 点とした。すなわち、1 回目励起電流の 7 秒後値 $I_f(7)$ 、2 回目励起電流の 0.3 秒後値 $I_b(0.3)$ 、同 0.5 秒後値 $I_b(0.5)$ 、同 1 秒後値 $I_b(1)$ 、同 5 秒後値 $I_b(5)$ とした。

演算に用いるパラメータは次の 4 つとした。すなわち、

- $P1: I_f(7) / I_b(5)$ 、
 $P2: I_b(5)$
 $P3: I / \Delta I(0.5) = I_b(0.5) / \{I_b(0.5) - I_b(1)\}$
 $P4: I_b(0.3) / I_b(5)$

このうち、 $I/\Delta I(0.5)$ 及び $I_b(0.5)/I_b(5)$ に関して、グルコース濃度の指標と考える $I_b(5)$ から期待される範囲を逸脱するデータは、飛び値補正を行った。具体的には、パラメータ値が

5 $I_b(5)$ から期待される範囲の上限値を上回った場合は、前記上限値をパラメータ値とし、期待範囲の下限値を下回った場合は、前記下限値をパラメータ値とした。また、パラメータの範囲は、 $I_b(5)$ から期待される期待範囲を中央値とし、母集団から導き出せるデータから中央値 $\pm 2SD$ で設定した。例えば、測定された $I_b(5)$ から予想される

10 $I/\Delta I(0.5)$ の期待範囲が 3.68、前記パラメータの標準偏差が 0.39 であれば、前記 $I_b(5)$ から予想される範囲は 2.90 以上 4.46 以下となり、実際に得られた $I/\Delta I(0.5)$ が 4.50 であれば、 $I/\Delta I(0.5) = 4.46$ とみなした。

判別分析の母集団を作るためのデータ取りは、環境温度 25℃ と 3

15 2℃ において行った。血液試料は、複数の被験者から採取した血液を混合し、グルコース濃度を 30・60・75・100・150・200・250・300・400・500 mg/dL、Hct を 25・45・65% に調製したものをを用いた。グルコースセンサは、製造から 1 年半以内のものを用い、製造時期、製造ライン、センサ感度がランダムになる

20 様にして、各試料につき 10～14 のロットを選択した。本例においては、各環境温度毎に次の 2 つの母集団を作成した。すなわち、①試料物性補正としての Hct 補正を行うための母集団と、②センサ感度補正を行うための母集団である。その際、①に関しては、各グルコース濃度の 3 種類の Hct 検体のデータを一括した群を $I_b(5)$ の値の大小により 5 等分し、 $I_b(5)$ の最も大きい群 (H_1) と最も小さい群 (L_1) を母集団とした。単純に Hct 25% のデータ群と Hct 65% のデー

25

タ群を母集団とせず、前記の様に母集団を作成したのは、H c t 補正と同時にセンサ感度補正の効果も狙ったためである。②に関しては、各グルコース濃度のH c t 45%検体のデータをI b (5)の値の大小により5等分し、I b (5)の最も大きい群(H₂)と最も小さい群(L₂)を母集団とした。ここでH c t 45%のデータ群のみを扱ったのは、標準的なH c t 値と考えてセンサ感度補正の精度を高めるためである。

判別関数は、前記パラメータを用いて、それぞれの測定温度において得られた前記母集団を判別する関数として作成される。具体的には、H c t 補正用判別関数はH₁とL₁を判別する関数、センサ感度補正用判別関数はH₂とL₂を判別する関数として作成される。以降、25℃測定データから求めた判別関数を用いた補正方式を補正I、32℃測定データから求めた判別関数を用いた補正方式を補正IIとする。補正Iは低温及び室温条件における補正を、補正IIは高温条件における補正を対象としている。この様に補正方式を温度により2種類に分けるのは、主としてI f (7) / I b (5)の温度依存性が大きいからである。

補正IのH c t 補正用判別関数は、4種類作成した。すなわち、30～75 mg / d L用、75～150 mg / d L用、150～300 mg / d L用、300～500 mg / d L用である。例えば、75～150 mg / d L用の場合、75 mg / d Lと150 mg / d LのH₁とL₁を母集団として、それら2群を判別する判別関数を求めた。なお、その際、H c tの影響により高値化するデータ（すなわち高H c t 検体のデータ）の判別得点Z値がプラスになる様に、判別関数を作成した。また、母集団を作成する際、G r u b s - S m i r n o rの棄却検定により異常値と見なされるパラメータを含むデータは除外した。母集団は、できる限り均一であることが好ましいからである。

H c t 補正用判別関数は、環境温度から予め算出しておいた温度補正

係数 (T 1) を I b (5) に乗じた値を指標として選択し、選択数は 1
 ～ 2 とした。なお、T 1 は、基準として考える 25℃において、1 とし
 た。複数の判別関数が選択された場合は後述する。単一の H c t 補正用
 判別関数が選択された場合、前記判別関数に前記パラメータ値を代入し、
 5 判別得点 Z 値およびそれに応じた補正幅 A を算出した。補正幅 A の決定
 には、非線形的補正方法を用いた。すなわち、 $Z_A < Z_B < Z_C < Z_D$ (Z_A 、 Z_B 、 Z_C 、 Z_D は判別関数毎に経験的に決められる定数) とし、あ
 る電流値 I b (5) および判別得点 Z 値が得られた時に、 $Z < Z_A$ なら
 ば Z 値に関わらずプラス側に一定幅補正、 $Z_A \leq Z < Z_B$ ならば Z 値に応
 10 じてプラス側に線形補正、 $Z_B \leq Z < Z_C$ ならば無補正、 $Z_C \leq Z < Z_D$
 ならば Z 値に応じてマイナス側に線形補正、 $Z_D \leq Z$ ならば Z 値に関わ
 らずマイナス側に一定幅補正とした。一定幅補正とは、それぞれの判別
 関数において、測定された I b (5) により決定される、一定幅で補正
 を行うことである。また線形補正とは、前記一定幅を上限として Z 値と
 15 の比例関係から補正幅を決めることである。例えば、 $Z \geq 10$ の時の補
 正幅が -0.10、 $5 \leq Z < 10$ の時にマイナス側に線形補正するとし
 て、 $Z = 8$ が得られた時の補正幅は、下記の式 (数 1) に示す様に求め
 る。

20 (数 1)

$$\text{補正幅 } A = -0.10 \times (8 - 5) / (10 - 5) = -0.06$$

ここで一定幅補正という表現を用いているが、これは I b (5) が決
 まれば補正幅が一定値になるという意味であり、補正幅自体は I b (5)
 25 の大きさにより変化する。H c t 補正が無補正 (補正幅 A = 0) の場合
 は次項以降に述べるセンサ感度補正を行い、補正幅 B を求めた。H c t

補正を行った（補正幅 $A \neq 0$ ）場合は、次項以降のセンサ感度補正は行わない。

- 補正 I のセンサ感度補正用判別関数は、7 種類作成した。すなわち、
75 ~ 100 mg / d L 用、100 ~ 150 mg / d L 用、150 ~ 2
5 00 mg / d L 用、200 ~ 250 mg / d L 用、250 ~ 300 mg
/ d L 用、300 ~ 400 mg / d L 用、400 ~ 500 mg / d L 用
である。例えば、75 ~ 100 mg / d L 用の場合、75 mg / d L と
100 mg / d L の H_2 と L_2 を母集団として、それら 2 群を判別する
判別関数を求め、それを前記濃度域のセンサ感度補正用判別関数とした。
- 10 その際、高感度センサで測定した場合の判別得点 Z 値がプラスになる様に、判別関数を作成した。なお、母集団を作成する際、統計的棄却検定の一つである Grubbs - Smirnov の棄却検定において飛び離れたデータと見なされるパラメータを含むデータは、除外した。前記 H c t 補正用判別関数作成時と同様、母集団としては均質な集団の方が
- 15 好ましいからである。

- センサ感度補正用判別関数の選択は、I b (5) を指標として選択し、
選択数は 1 ~ 2 とした。単一の判別関数が選択された場合は、前記判別
関数にパラメータ値を代入し、判別得点 Z 値およびそれに該当する補正
幅を算出し、前記補正幅を補正幅 B とした。なお前記補正幅の決定には、
- 20 H c t 補正と同様、非線形的補正方式を用いた。複数の判別関数が選択された場合は、前記判別関数のそれぞれから補正幅を算出し、平均値を補正幅 B とした。

単一の H c t 補正用判別関数が選択された場合の補正幅中間値 C は次の様に決定される。

25

- (1) 補正幅 $A \neq 0$ の場合は、補正幅中間値 $C = \text{補正幅 } A$

(2) 補正幅 $A = 0$ の場合は、補正幅中間値 $C =$ 補正幅 B

2 種類の Hct 補正用判別関数が選択された場合は、前記と同様にして、前記 Hct 補正用判別関数のそれぞれから求められる補正幅中間値 C の平均値または加重平均値を求め、それを補正 I 最終補正幅 D とした。
 5 Hct 補正用判別関数が 1 種類しか選択されていない場合は、その補正幅中間値 C を補正 I 最終補正幅 D とした。補正 I 最終電流値 $I_b(5)_I$ は、 $I_b(5)$ に最終補正幅を加算した値となる。

補正 II に関しても、補正 I と同じ考え方を適応して、データ取り、
 10 母集団および判別関数の作成、補正幅の算出などを行い、補正 II 最終電流値 $I_b(5)_{II}$ を求めた。

温度補正前電流値 $I_b(5)'$ は、温度センサ検知温度 $T(^{\circ}C)$ から、次の様に決定した。

$T < 30$ の時

15 $I_b(5)' = I_b(5)_I$ 、

$30 \leq T \leq 35$ の時

$$I_b(5)' = (35 - T) / (35 - 30) \times I_b(5)_I + (T - 30) / (35 - 50) \times I_b(5)_{II}$$

$T > 35$ の時

20 $I_b(5)' = I_b(5)_{II}$

例えば、 $T = 32^{\circ}C$ の時の $I_b(5)'$ は、次の様に求められる。

$$I_b(5)' = 3/5 \times I_b(5)_I + 2/5 \times I_b(5)_{II}$$

この様にして求められる $I_b(5)'$ に温度補正係数 ($T2$) を乗じた値 $I_b(5)''$ を下に、別途作成する検量線テーブルから、グルコース濃度値に変換した。
 25

一例を挙げると、環境温度 25℃の下でグルコース濃度 154 mg / d L · H c t 65%の血液検体を測定して、次の様なデータが得られた。

- $$I f (7) = 2.142 (\mu A)$$
- 5 $I b (0.3) = 7.578 (\mu A)$
- $$I b (0.5) = 6.312 (\mu A)$$
- $$I b (1) = 4.932 (\mu A)$$
- $$I b (5) = 2.142 (\mu A)$$
- 10 これらのデータから以下のパラメータが得られる。
- $$I f (7) / I b (5) = 0.8069$$
- $$I / \Delta I (0.5) = I b (0.5) \div \{ I b (0.5) - I b (1) \}$$
- $$= 4.575$$
- $$I b (0.3) / I b (5) = 2.855$$
- 15 $I b (5) = 2.654$

- この時、 $I b (5)$ の値から $I / \Delta I (0.5)$ 及び $I b (0.3) / I b (5)$ の期待範囲は、それぞれ 3.050 ~ 4.496、2.817 ~ 4.361 と求まる。ここで、 $I / \Delta I (0.5)$ は期待範囲の
- 20 上限を越え、飛び値と判断されるため、以降の計算においては、 $I / \Delta I (0.5) = 4.496$ とする。

- 補正 I を行う。 $I b (5) = 2.654$ を指標として H c t 補正用判別関数を選択する。 $I b (5)$ が 2.407 ~ 3.400 の時は、75 ~ 150 mg / d L 用判別関数と 150 ~ 300 mg / d L 用判別関
- 25 数を用いる。前記判別関数は、それぞれ以下の様に定義される。

75 ~ 150 mg / d L · H c t 補正用判別関数

$$Z(L) = 34.525 \times P1 - 27.333 \times P2 \\ - 21.717 \times P3 + 3.1870 \times P4 + 141.90$$

150 ~ 300 mg / d L · H c t 補正用判別関数

$$5 \quad Z(N) = 331.25 \times P1 - 16.739 \times P2 \\ - 22.331 \times P3 + 6.7191 \times P4 - 158.00$$

但し、 $P1 = I f(7) / I b(5)$ 、 $P2 = I / \Delta I(0.5)$ 、 $P3 = I b(0.3) / I b(5)$ 、 $P4 = I b(5)$ とする。

本例においては、 $Z(L) = -5.753$ となる。 $-8 \leq Z(L) < -4$ の時はプラス側に線形的に補正するので、補正幅 A_L を以下の式より算出する。

$$A_L = \{0.1205 \times I b(5) - 0.1049\} \\ \times \{-4 - Z\} / \{-4 - (-8)\} \\ 15 \quad = 0.1024$$

$A_L \neq 0$ であるのでセンサ感度補正は行わない。 0.1024 が補正幅中間値 C_L となる。

また、本例においては、 $Z(N) = -11.887$ となるが、 $-15 \leq Z(N) < 5$ の時は無補正であるので、センサ感度補正をすることになる。今、 $I b(5) \times$ 温度補正係数 $(T1) = 2.654$ であり、 $2.582 \sim 3.316$ の間であるので、センサ感度補正用判別関数は $150 \sim 200$ mg / d L のものを用いる。 $150 \sim 200$ mg / d L センサ感度補正用判別関数は次の様に定義される。

25

150 ~ 200 mg / d L センサ感度補正用判別関数

$$Z(S_3) = 43.581 \times P1 - 25.041 \times P2 - 25.472 \\ \times P3 + 2.0536 \times P4 + 141.86$$

但し、 $P1 = I_f(7) / I_b(5)$ 、 $P2 = I / \Delta I(0.5)$ 、 $P3 = I_b(0.3) / I_b(5)$ 、 $P4 = I_b(5)$ とする。

5

本例においては、 $Z(S_3) = -2.827$ となる。

$-6 \leq Z(S_3) < -2$ の時はプラス側に線形的に補正するので、補正幅 B_N を以下の式より算出する。この B_N は補正幅中間値 C_N となる。

$$10 \quad B_N = C_N = \{0.0312 \times I_b(5) - 0.0121\} \\ \times \{-2 - Z(S_3)\} / \{-2 - (-6)\} \\ = 0.0146$$

本例では Hct 補正用判別関数を2つ選択しているので、補正 I の最終補正幅 D_1 は、2つの補正幅中間値 C_L および C_N の平均値となる。

$$D_1 = (0.1024 + 0.0146) \div 2 = 0.0585$$

よって、補正 I により求められる補正後電流値 $I_b(5)_1$ は、次の様に求められる。

$$20 \quad I_b(5)_1 = 2.654 + 0.0585 \div 2.713$$

今温度は 25°C であり、温度補正前電流値 $I_b(5)' = I_b(5)_1$ となるので、 $I_b(5)_{11}$ を算出する計算過程は省略する。また 25°C であるため、温度補正係数は1となり、温度補正後電流値 $I_b(5)'' = I_b(5)' = 2.713$ となる。この $I_b(5)''$ 値を別途作成する検量線に当てはめ、グルコース濃度換算する。グルコース濃度 154 mg/dL

g/dL・Hct 45%データのIb (5)の平均値、すなわちグルコース154mg/dLの時のIb (5)の期待値は2.790であり、本法を用いて補正を行うことで、期待範囲からの乖離を低減することができた(補正前=2.142、補正後=2.713)。

- 5 本実施例において、試料物性及びセンサ感度に起因する誤差が低減されたことを、グルコース濃度150mg/dLの結果を下に、以下に説明する。

- 各Hct検体につきセンサ10ロット×N数(10)ずつ測定したが、測定データ全体の変動係数CV(%)の補正前後による違いを以下に示す。以下の表からセンサ感度に起因する誤差が低減されていることが示される。

(表7)

検体Hct	補正前	補正後	補正効果(補正前ー補正後)
25%	4.7%	4.3%	△0.4%
45%	4.5%	4.2%	△0.3%
65%	5.1%	4.7%	△0.4%

- 15 Hctには個人差があるので、本発明はHct 45%を基準として考える。各Hct検体電流平均値のHct 45%検体電流平均値からの乖離(%)は表2に示される。本表からHctに起因する測定誤差が明らかに改善されたことがわかる。

20 (表8)

検体Hct	補正前	補正後	補正効果(補正前ー補正後)
25%	15.6%	8.2%	△7.4%
65%	-7.2%	-3.8%	△3.4%

また、得られる測定値が真値または期待範囲から最大限どれだけ乖離するかを示す指標として、全体誤差 (Total Error、以下 TE) を考える。TE は次の様に定義する。

$$5 \quad TE (\%) = DEV (\%) + 1.65 \times CV (\%)$$

CV 項の係数である 1.65 は、標準正規分布の片側確率 5% となる Z 値 (判別得点ではなく、標準正規分布における Z 値) の値であり、本項において定義された TE は、全データの 95% が入ると考えられる、真値からの乖離幅である。

10 本実施例における TE は表 3 の通りとなる。

(表 9)

検体 H c t	補正前	補正後	補正効果 (補正前－補正後)
25%	23.3%	15.3%	△8.0%
45%	7.4%	7.0%	△0.4%
65%	15.6%	11.5%	△4.4%

15 産業上の利用可能性

以上の様に、本発明の測定方法によれば、センサの化学反応層及び電極系の組成を変更することなく、試料物性およびセンサ感度等に起因する分析対象物の誤差を効果的に補正することができ、信頼性のある測定値を得ることができる。

請 求 の 範 囲

1. バイオセンサを用いて試料中の分析対象物の濃度を測定する電気化学的測定方法において、試料供給後の前記バイオセンサに一定電圧を印加した結果得られる電流値からパラメータを算出し、これらのパラメータを用いて統計的手法により誤差影響を補正して分析対象物濃度を求めることを特徴とする電気化学的測定方法。
- 5
2. パラメータとして、試料物性によって誤差影響を受けるパラメータを選択する請求項 1 記載の測定方法。
- 10
3. パラメータとして、センサ感度によって誤差影響を受けるパラメータを選択する請求項 1 記載の測定方法。
4. 試料供給後のバイオセンサに定められた電圧を 2 回印加して得られる電流値から下記パラメータ P 1 およびパラメータ P 2 を算出し、これらのパラメータから統計的手法により誤差影響を補正して分析対象物濃度を求める請求項 1 記載の測定方法。
- 15
- P 1 : 1 回目励起における電流の最大値または最大値以降の電流値 (I_f) と 2 回目励起の任意の時点における電流値 (I_b) との比 (I_f / I_b) 。
- P 2 : 2 回目励起の任意の時点における電流値 (I_b) 。
- 20
5. パラメータ P 1 およびパラメータ P 2 に用いる 2 回目励起の任意の時点の電流値 I_b が、2 回目励起電流の終期の電流値 ($I_b(\beta)$) である請求項 4 記載の測定方法。
6. パラメータ P 1 およびパラメータ P 2 に加え、下記に示すパラメータ P 3 およびパラメータ P 4 の少なくとも一方を用いる請求項 4 記載
- 25
- の測定方法。
- P 3 : 2 回目励起時電流の任意の時点における微分値または差分値を前

記時点における電流値で基準化した値 ($I / \Delta I (\delta)$)。

P 4 : 2 回目励起時電流の初期電流値 ($I b (\alpha)$) と終期電流値 ($I b (\beta)$) との比 ($I b (\alpha) / I b (\beta)$)。

7. パラメータ P 3 およびパラメータ P 4 の少なくとも一方の値が、
- 5 期待値の範囲から外れている場合、前記値を、それに最も近い期待値に置き換える請求項 6 記載の測定方法。
8. 環境温度または試料温度に応じて適切な補正を行うため、環境温度または試料温度に応じた統計的手法を用いた複数の補正式を用意し、この中から最適な補正式を選択する請求項 1 記載の測定方法。
- 10 9. 環境温度または試料温度が、補正式に用いる温度範囲の境界域に該当する場合、境界に隣接する双方の補正式を選択して、それぞれから補正幅を算出し、それらの平均値または加重平均値を濃度換算用電流値に加算し、この加算値を基に、試料中の分析対象物濃度を求める請求項 8 記載の測定方法。
- 15 10. パラメータから、判別関数を選択する請求項 1 記載の測定方法。
11. 判別関数から判別得点を求めて、この判別得点に比例した補正幅により分析対象物濃度を算出する請求項 10 記載の測定方法。
12. 判別得点に関係なく一定の補正幅によって分析対象物濃度を算出する範囲と、補正を行わずに分析対象物濃度を算出する範囲とを設ける請求項 10 記載の測定方法。
- 20 13. 環境温度または試料温度の測定手段と、試料供給の検知手段と、定められた時点において所定の電圧をバイオセンサに印加する手段と、電気化学反応により生じる電流値の測定手段と、前記電流の測定値を試料中の分析対象物濃度に換算する手段とを備えた電気化学的測定装置であって、前記温度測定手段、前記試料供給検知手段、前記印加手段、前記電流値測定手段および前記換算手段が、請求項 1 から 12 のいずれか

一項に記載の測定方法を実行するように制御されている測定装置。

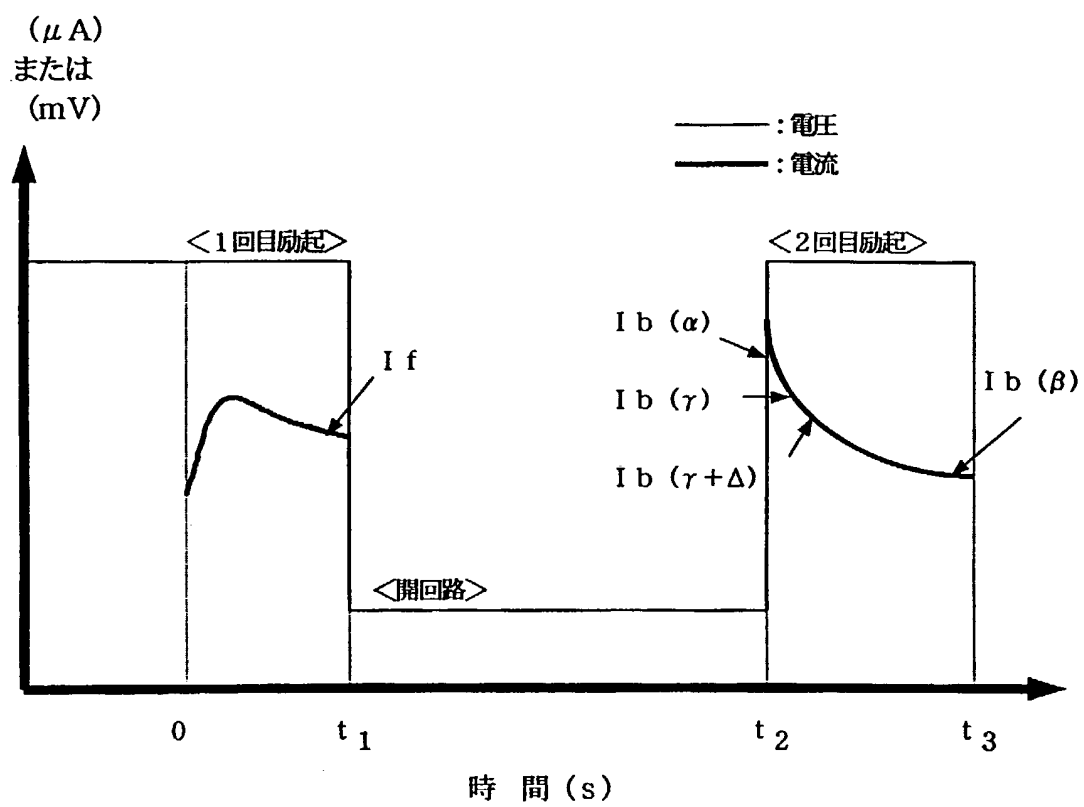


Fig. 1

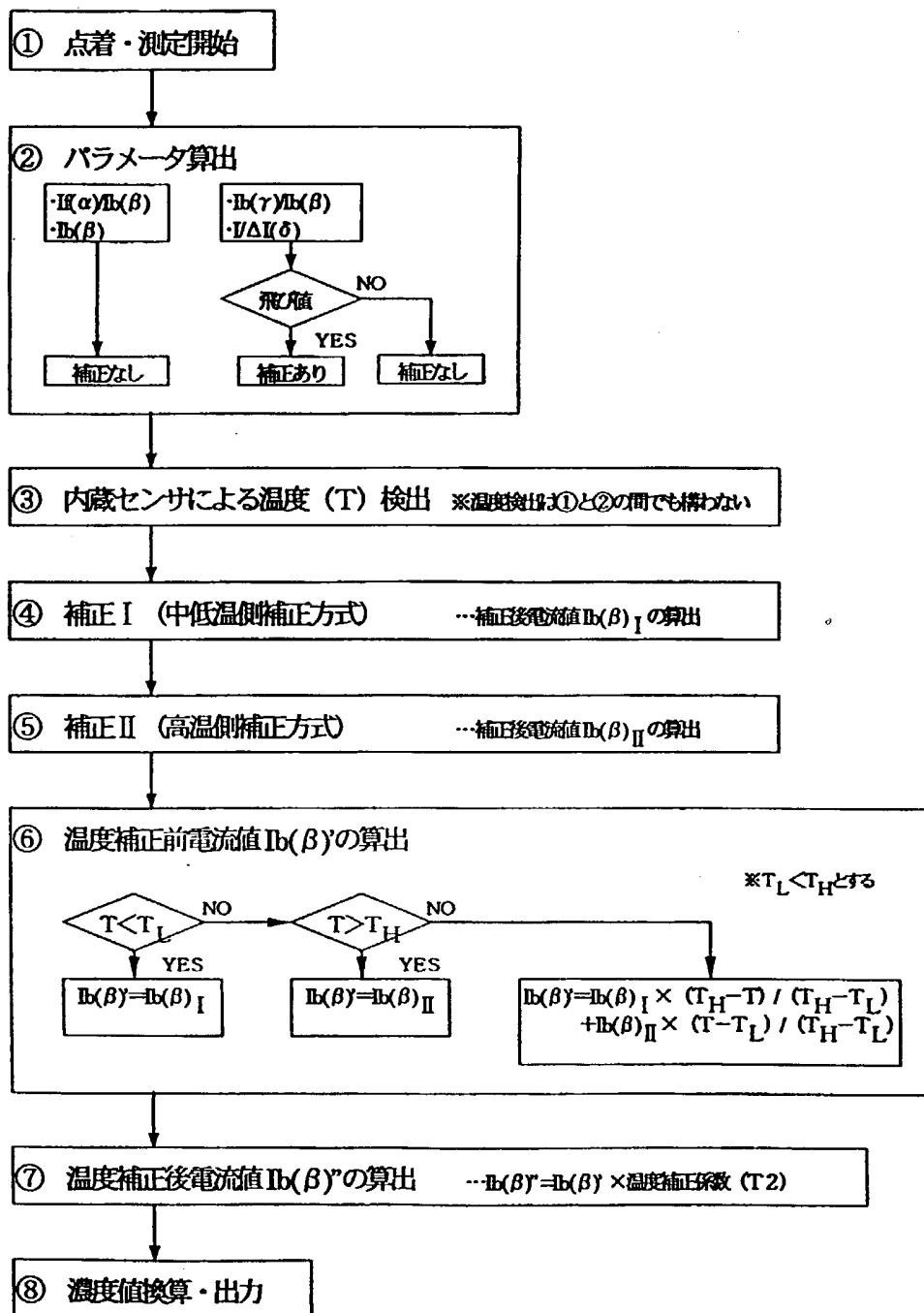


Fig. 2

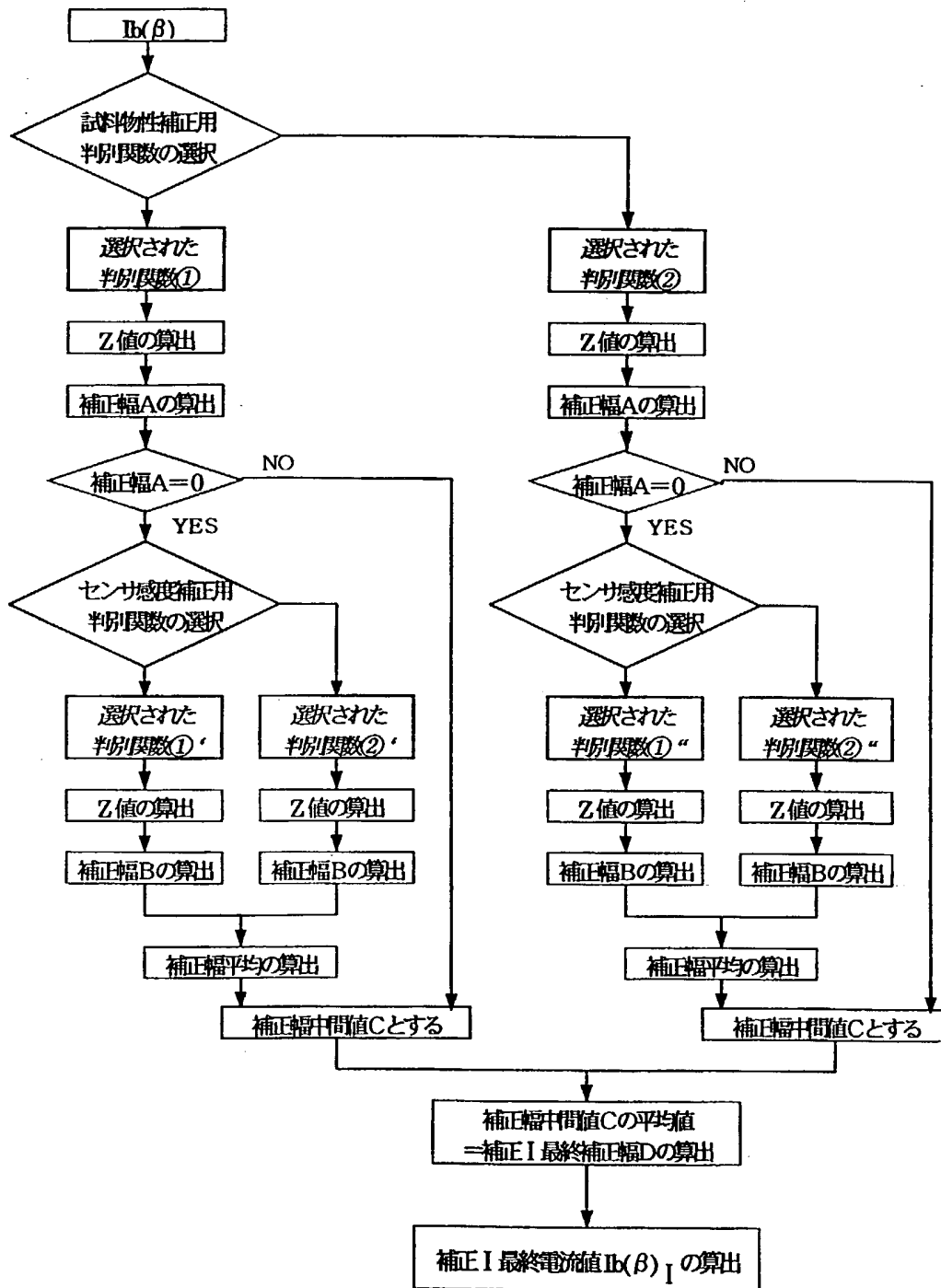


Fig. 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/02632

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁶ G01N27/327, G01N27/26

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁶ G01N27/327, G01N27/26, G01N27/416

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-1999

Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-1999 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-1999

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP, 8-304340, A (Bayer Corp.), 22 November, 1996 (22. 11. 96), Full text ; Figs. 1 to 3	1-3
Y	Full text ; Figs. 1 to 3	8, 9, 13
A	Full text ; Figs. 1 to 3 & EP, 741186, A	4-7, 10-12
Y	JP, 8-503304, A (Boehringer Mannheim Corp.), 9 April, 1996 (09. 11. 96), Full text ; Figs. 1 to 5	8, 9, 13
A	Full text ; Figs. 1 to 5 & WO, 9429704, A	4-7, 10-12
A	JP, 4-328459, A (Japan Energy Corp.), 17 November, 1992 (17. 11. 92), Full text ; Figs. 1 to 5 (Family: none)	1-13
A	JP, 9-201337, A (Casio Computer Co., Ltd.), 5 August, 1997 (05. 08. 97), Full text ; Figs. 1 to 5 (Family: none)	1-13

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
3 August, 1999 (03. 08. 99)Date of mailing of the international search report
17 August, 1999 (17. 08. 99)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/02632

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P	JP, 10-318963, A (Bayer Corp.), 4 December, 1998 (04. 12. 98), Full text ; Figs. 1, 2 & EP, 878713, A	1-13

国際調査報告

国際出願番号 PCT/J P 99/02632

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl^o G01N27/327, G01N27/26

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl^o G01N27/327, G01N27/26, G01N27/416

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1922-1996年
 日本国公開実用新案公報 1971-1999年
 日本国登録実用新案公報 1994-1999年
 日本国実用新案登録公報 1996-1999年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X Y A	J P, 8-304340, A (バイエルコーポレーション) 22. 11月. 1996 (22. 11. 96) 全文, 第1-3図 全文, 第1-3図 全文, 第1-3図 & E P, 741186, A	1-3 8, 9, 13 4-7, 10-12
Y A	J P, 8-503304, A (ベーリンガー マンハイム コー ポレーション) 9. 4月. 1996 (09. 11. 96) 全文, 第1-5図 全文, 第1-5図 & W O, 9429704, A	8, 9, 13 4-7, 10-12

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

03. 08. 99

国際調査報告の発送日

17.08.99

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

黒田 浩一

2 J

9218

電話番号 03-3581-1101 内線 3252

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	J P, 4-328459, A (日本鉱業株式会社) 17. 11月. 1992 (17. 11. 92) 全文, 第1-5図 (ファミリーなし)	1-13
A	J P, 9-201337, A (カシオ計算機株式会社) 5. 8月. 1997 (05. 08. 97) 全文, 第1-5図 (ファミリーなし)	1-13
P	J P, 10-318963, A (バイエルコーポレーション) 4. 12月. 1998 (04. 12. 98) 全文, 第1-2図 & E P, 878713, A	1-13